

熊本大学学術リポジトリ

Kumamoto University Repository System

Title	江津湖・加勢川水系におけるAeromonas属細菌の分布
Author(s)	浅川, 牧夫; 開田, 耕
Citation	熊本大学教育学部紀要 自然科学, 44: 181-189
Issue date	1995-12-15
Type	Departmental Bulletin Paper
URL	http://hdl.handle.net/2298/2309
Right	

江津湖・加勢川水系における *Aeromonas* 属細菌の分布

浅 川 牧 夫・開 田 耕*

Distribution of *Aeromonas* sp. in the Ezuko Lake and the Kasegawa River

Makio ASAKAWA and Kou HIRAKIDA

(Received September 4, 1995)

Species of the genus *Aeromonas* are considered natural inhabitants of aquatic environments and are known to produce virulent factors such as enterotoxin, hemolysin and protease. The organism has received particular attention because of its association with diseases of amphibians, reptiles, fishes and humans. In Japan, *A. hydrophila* and *A. sobria* have been officially recognized as food poisoning bacteria since 1982.

Fifteen stations in the Ezuko Lake and the Kasegawa River in Kumamoto City were chosen to determine the distribution of *Aeromonas* sp. and the investigation was carried out on 16th August, 1993. The density of *Aeromonas* sp. was at a high level in the sampling waters from the Shokeborigawa River and the Kengungawa River, which are tributary streams of the Kasegawa River. The experimental results showed that large numbers of *Aeromonas* sp. in these rivers may be responsible for water pollution in the Ezuko Lake and the Kasegawa River.

Key words: *Aeromonas* sp., distribution, Ezuko Lake, aquatic environments, water pollution

1 はじめに

Aeromonas 属細菌は河川, 湖沼, 沿岸海域などに広範囲に分布する典型的な水系の常在菌である。¹⁾ エンテロトキシン, ヘモリシン, プロテアーゼ, コレラ毒関連物質等の様々な病原物質を菌体外に産生する¹⁾ と共に, 魚病²⁾, 食中毒^{3~6)} および腸管系下痢症^{7~8)} の起因菌として知られている。わが国では昭和 57 年に *Aeromonas hydrophila* と *Aeromonas sobria* が食中毒菌として新たに指定されている。外国では上水道利用者の下痢患者数の増減に関して, *Aeromonas* 属細菌との相関が報告されており, 飲料水の公衆衛生上の安全指標菌としても有用と考えられている。^{9~13)} 河川や湖沼での魚釣り, ダイビング, 水泳, 水遊びあるいは誤飲などによっておきる *Aeromonas* 属細菌による感染症の危険性¹⁴⁾ が指摘されているが, 江津湖・加勢川水系における *Aeromonas* 属細菌に関する研究は見当たらない。

今回調査した江津湖・加勢川水系は, 阿蘇西麓台地の末端に位置し, 上流域は県下有数の湧水群を形成している。また, 加勢川の膨張湖である上江津湖および下江津湖周辺は, 環境整備の進展に伴って親水公園として市民の憩いの場となっている。本研究では, 熊本市の親水公園として

熊本大学教育学部食物学研究室: 860 熊本市黒髪 2-40-1

* 熊本大学大学院教育学研究科

位置づけられている江津湖・加勢川水系の、夏期における一般細菌および *Aeromonas* 属細菌の分布を明らかにする目的で、水前寺公園から大六橋に至る 15 採水地点での細菌数の調査を行った。

2 実験方法

2-1 採水方法

図 1 に示すように、水前寺公園から下江津湖下流域（約 4.5km）にかけて、15 カ所の採水地点を設定し、平成 5 年 8 月 16 日午前中に調査を行った。滅菌したサンプル瓶に試料水を取り、氷冷して実験室に持ち帰った。採水した試料水は予想細菌数に応じて滅菌生理食塩水を用いて 10 倍段階に希釈して使用した。なお、採水地点の水温の測定も合わせて行った。

2-2 細菌数の測定

一般細菌数は平板塗抹法により 25°C で 24~72 時間培養し、標準寒天培地上に生育した生菌数を求めた。*Aeromonas* 属細菌は ampicillin を添加した *Aeromonas* Ager Base (Oxoid 製, AAB 培地) を用いて、一般細菌と同様に培養した。Oxoid 社のマニュアル¹⁵⁾に従って、暗緑色のコロニーをつくる細菌を *Aeromonas* 属細菌としてその生菌数を求めた。

2-3 生化学的試験

Aeromonas 属細菌はグラム陰性の通性嫌気性桿菌でブドウ糖を発酵して酸を産生する。オキシダーゼ陽性の点で腸内細菌と、また O/129 (Vibrio-static agent) に感受性がない点で *Vibrio* 属細菌と区別できる。¹⁶⁾ この点をふまえて分離菌の性状や特徴を調べるために次のような試験を行った。

グラム染色試験は CVT 寒天培地（日水製薬）を、オキシダーゼ試験はチトクローム・オキシダーゼ判定用試験濾紙（日水製薬）を用いて行った。O/129 試験は Oxoid 製の O/129 ディスク（150 μ g 含有）を用い、感受性のあるものを陽性菌と判定した。ブドウ糖発酵試験は、GF 培地（日水製薬）を用い、ブドウ糖の分解形式を調べた。*Aeromonas* 属細菌は溶血性試験においては血液寒天培地上で溶血性を示すことから、馬血液寒天培地（日水製薬）を用いて溶血性試験を行った。なお、分離した *Aeromonas* 属細菌の同定は ID テスト・EB-20（日水製薬）を用いて行った。

3 結 果

3-1 採水地点の特性と水温

採水地点は図 1 に示す通りである。水前寺公園から上江津湖一帯は県下でも有数の湧水地帯が続いている。県立図書館裏 (St. 3)、江津遊園地バス停前 (St. 4) および水上公園前 (St. 5) 一帯は、湧水が最も豊富で水量も多く清冽である。上江津湖には藻器堀川 (St. 2) と健軍川 (St. 7) が合流しており、この両河川の流域は熊本市の住宅および商業区域であり、下水道の整備が進んでいるものの、流域の生活排水の一部は江津湖の水質に影響を及ぼしているものと思われた。

上江津橋 (St. 8) から画図橋 (St. 9) 間は川幅が狭くなっており、比較的流れも速く下江津湖へ

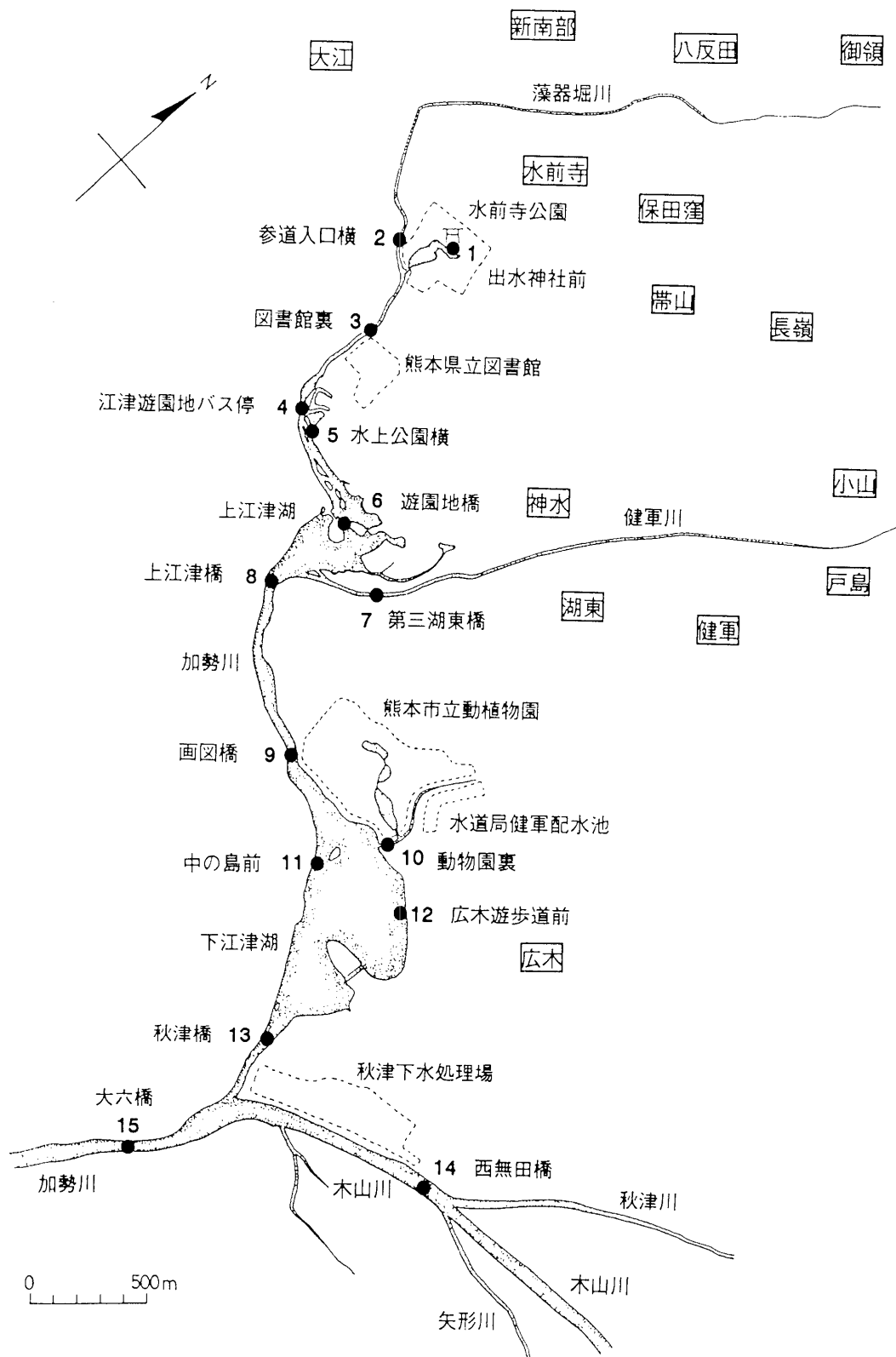


図1 江津湖・加勢川水系の採水地点

と続いている。動物園裏 (St. 10) から広木 (St. 12) にかけては、流れが緩やかになるとともに滞留し、湖水の交換は活発ではなく、底質はヘドロ化している。中の島 (St. 11) から秋津橋 (St. 13) にかけては、底泥の浚渫によりいくらか流れは回復しているものの、透明度が悪く上江津湖に比べて明らかに汚染が進んだ状態にあった。これより下流で木山川が加勢川に合流しており、この流域では木山川水系からの汚染の影響が見られた。

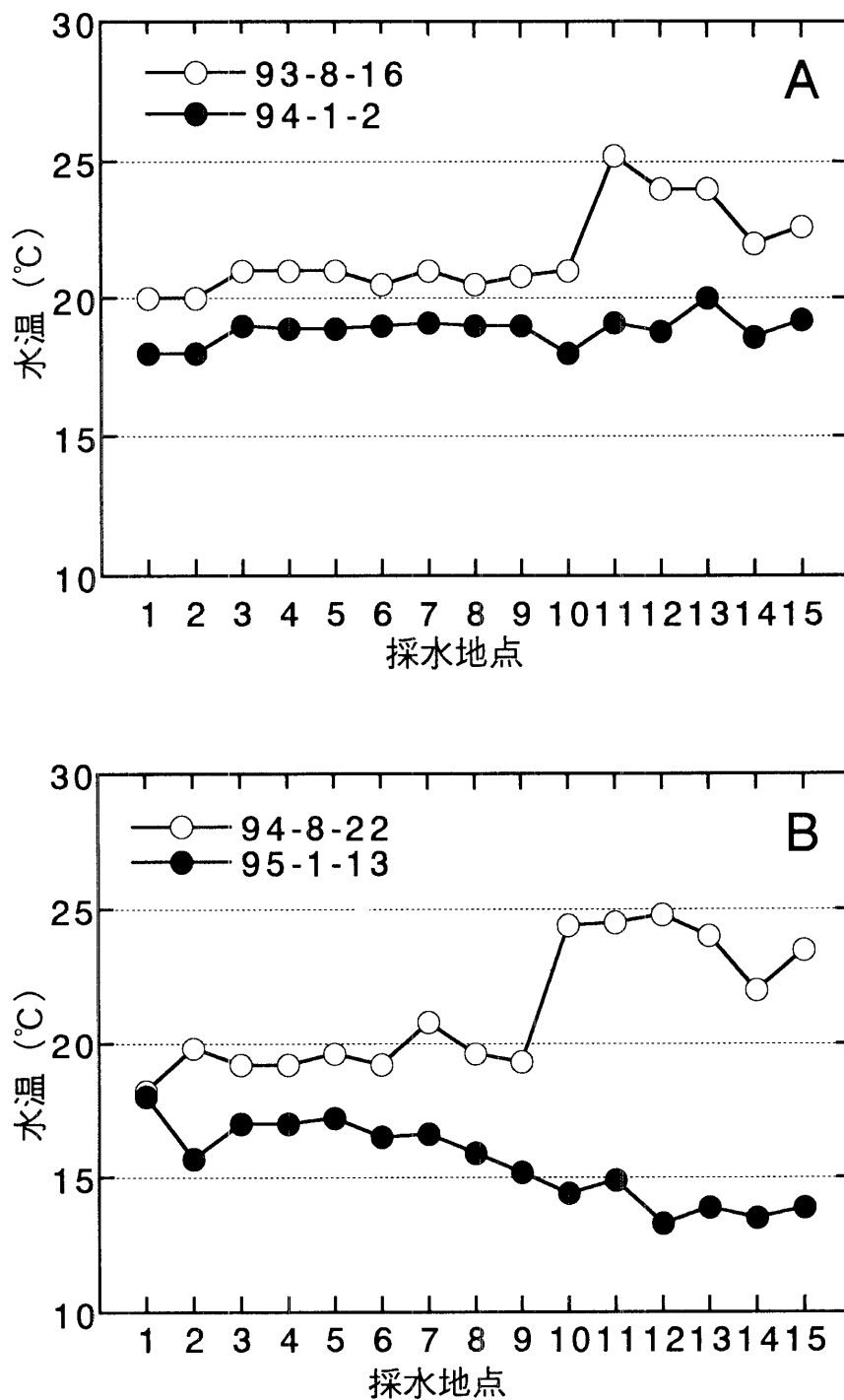


図2 1993年度～1994年度の夏期および冬期の水温変化

今回調査した江津湖の 1993 年度と 1994 年度の夏期と冬期の温度差は、調査した年によって多少異なるものの、上江津湖一帯では $2\sim 3^{\circ}\text{C}$ であったが、下江津湖では $5\sim 12^{\circ}\text{C}$ とその差は著しく大きかった (図 2A, 2B)。

上江津湖と下江津湖の 1 年間にわたる月別の水温の変化を図 3 に示す。上江津湖 (St. 5, St. 6) では、1994 年 4 月から 11 月の春期から晩秋にかけて、水温の変動が極めて小さくおよそ 19.5°C であり、冬期の 12 月から翌年 3 月の間はおおよそ 17°C であった。すなわち、湧水の影響を強く受ける上江津湖では、年間の水温差はわずかに 2°C 前後であり、水温の変動が非常に小さくほぼ一定であった。一方、下江津湖 (St. 11, St. 12) では、春期から夏期にかけて水温の上昇が見られ最高 27°C を示したが、晩秋からは急激な水温の低下に伴い厳冬期には 15°C 以下となり、年間 10°C 以上の水温差が認められた。この結果、上江津湖とは異なり、下江津湖は季節的に気温の影響を強く受けることが明らかになった。それぞれの水域でのこのような水温特性は、水域の動物や植物などの生態系に大きな影響を与えているものと推察された。

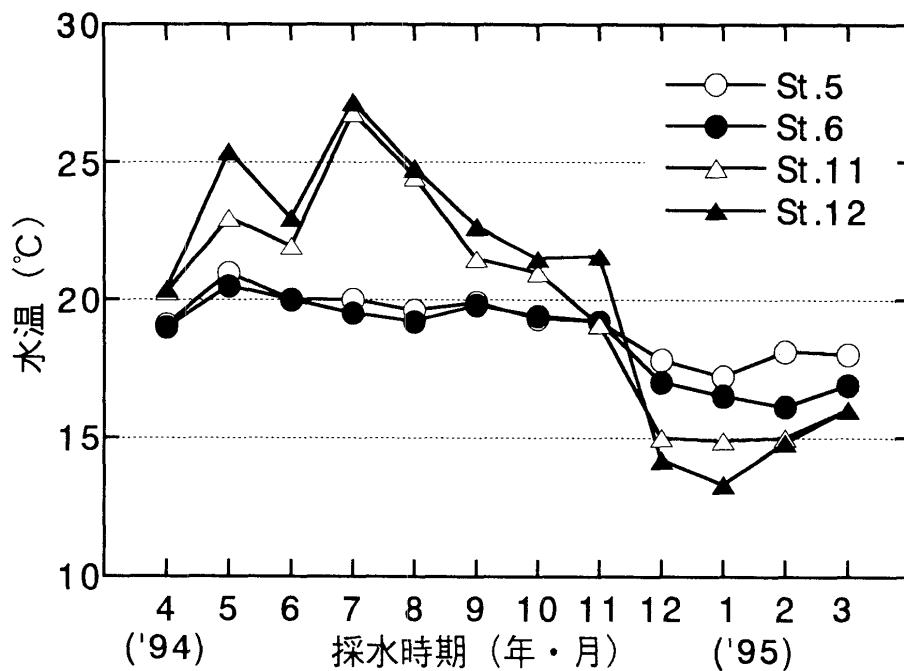


図 3 上江津湖および下江津湖の月別水温変化

3-2 一般細菌および *Aeromonas* 属細菌の菌数とその分布

調査した 15 採水地点の細菌数について図 4 に示す。湧水源であり生活排水の流入のない水前寺公園内の池 (St. 1) の一般細菌数および *Aeromonas* 属細菌数は、予想されたように少なかった。しかし、藻器堀川 (St. 2) および健軍川 (St. 7) の一般細菌数は、それぞれ $8.4 \times 10^4 \text{cfu/ml}$ および $1.4 \times 10^5 \text{cfu/ml}$ 、*Aeromonas* 属細菌数は両河川とも $3 \times 10^3 \text{cfu/ml}$ と、いずれも他の採水地点に比べて著しく高い値を示した。

一般細菌数は上江津湖では平均 10^4cfu/ml 、下江津湖およびその下流では平均 $3 \times 10^4 \text{cfu/ml}$ であった。一方、*Aeromonas* 属細菌数については、上江津湖では平均 $2 \times 10^2 \text{cfu/ml}$ 、下江津湖では

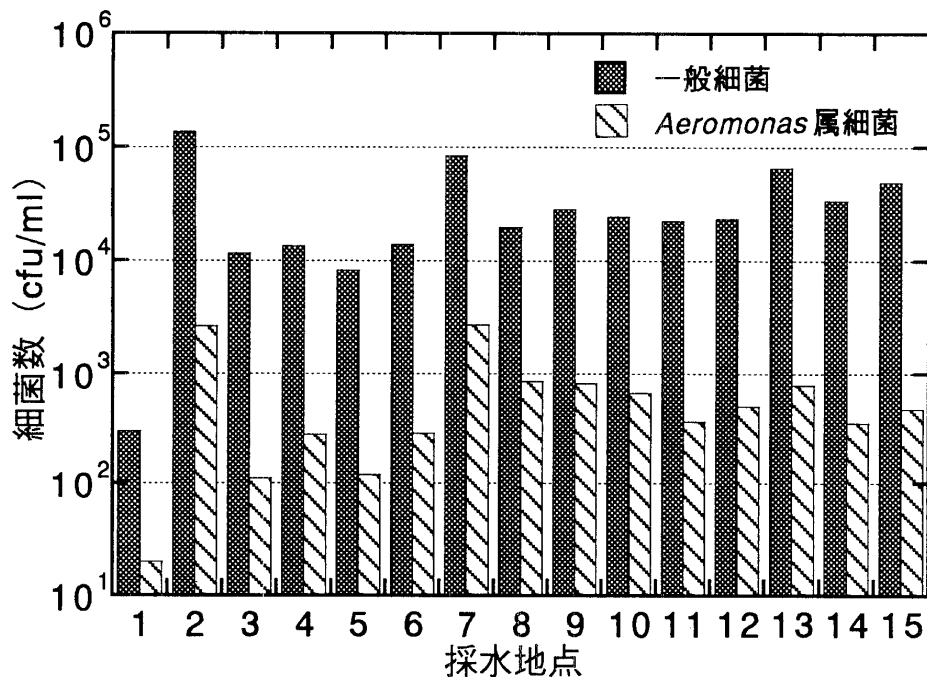


図4 夏期における一般細菌および *Aeromonas* 属細菌の分布
(1993年8月16日採水)

平均 8×10^2 cfu/ml であった。一般細菌数および *Aeromonas* 属細菌数が、St. 1 に比べて湧水域である St. 3～5 で急増している原因は、藻器堀川 (St. 2) 等からの生活排水の流入によるものと考えられる。全般的に上流域から下流域にかけて両細菌数が増加していることが明らかになった。

3-3 *Aeromonas* 属細菌の性状

ampicillin 添加 AAB 培地上では *Aeromonas* 属細菌は不透明な暗緑色のコロニーとして増殖し、一方 *Pseudomonas* 属細菌は半透明な青色～灰青色のコロニーを生じる。¹⁵⁾ 調査した各試料水からは暗緑色のコロニーと共に黄色や黒色のコロニーもいくらか出現した。同培地上に出現した暗緑色コロニーのほとんどがオキシダーゼ試験が陽性であり、ブドウ糖発酵試験において糖を発酵し、その 60%～80%が O/129 ディスクに抵抗性を示した。*Aeromonas* 属細菌と思われる細菌の中から、任意に 36 株を選び EB-20 テストを試みた。その結果、*A. hydrophila* が 28%、*A. sobria* が 55% および *A. caviae* が 16% の割合で同定された。

なお、上述のように ampicillin を添加した選択培地でも *Aeromonas* 属細菌のみを分離することは困難であった。*Aeromonas* 属細菌の分離のために種々の培地¹⁷⁻²⁰⁾ が考案されているが、いずれの培地も完全分離培地でないため、分離のためには他の培地との併用を考える必要があった。

4 考 察

4-1 調査水域の特性

加勢川は藻器堀川との合流点を起点とし、天明町で緑川に合流する全長約 20km の河川である。

途中川幅が膨張して上江津湖および下江津湖となっている。藻器堀川 (6.3km) は加勢川の支流の一つであり、このほかに健軍川 (7km) が上江津湖で、さらに木山川 (16.5km) が大六橋上流で加勢川に合流している。

水前寺から湧水域 (St. 1 および St. 3~5) までを一般河川の水源地、上江津湖 (St. 6~8) を上流域、下江津湖 (St. 9~13) を中流域、それ以降 (St. 14 および St. 15) を下流域とみなし、15ヶ所の採水地点を設定して調査した。すなわち、図1に示すように全調査水域は、St. 1 から St. 15 まではずかに 4.5km と短い、水源地から下流域にかけて特徴ある水域を形成していること、および最上流部で藻器堀川が、上流域で健軍川が、また下流域で木山川が合流しているだけで、水系全体の調査が容易であると考え、この江津湖・加勢川水系を一つの河川モデルとらえて調査を行った。

水源地に想定される水前寺から上江津湖に至るまでの水域 (St. 1 および St. 3~5) は、県下でも有数の湧水域を形成しており、水量は豊富で清冽であった。一方、遊園地橋 (St. 6) より下流には藻が大量に繁殖して水の流れが悪くなり、上江津湖下流の上江津橋 (St. 8) では透明度が悪化していた。下江津湖およびこれより下流域では水量の増加に伴い、透明度が極端に悪くなっていた。

ところで、昭和28年(1953)6月の熊本大水害は未曾有の被害をもたらしたが、江津湖・加勢川全水域ではそれまでの清冽な水質が急激に悪化した。さらに藻器堀川および健軍川流域は、その後の高度経済成長に伴って住宅および商業地域として著しい発展を遂げてきた。その結果、生活排水の両河川への流入が増加し、上下江津湖の急速な富栄養化をもたらすと共に、水質の悪化に拍車をかけてきた。現在では両支流の河川改修や流域の下水道整備も進展してきたが、依然として生活排水の流入が江津湖水域の水質汚染の原因の一つとなっていることが明らかになった。

今回調査した江津湖水系の夏期と冬期との温度差は、図2に示すように上江津湖一帯では2°C前後であったが、下江津湖では10°C以上の差が認められた。この結果は、採水地点毎の月別の水温の推移からも裏付けられた(図3)。このような水温の特性は、上江津湖が豊富な湧水のために周年にわたってほとんど水温(平均19°C)の変化がないのに反して、下江津湖は湖水の換水が悪く、特に広木 (St. 12) 付近は水塊が停滞気味であり、水温が大気温度に大きく左右された結果であると推察された。このような特徴ある水温変化を示す江津湖・加勢川水域の細菌分布については全く研究されておらず、今後の課題であると共に興味ある成果が期待される。

4-2 環境水中の *Aeromonas* 属細菌の分布

図4に示すように、藻器堀川および健軍川の一般細菌数および *Aeromonas* 属細菌数は、予想された通り他の採水地点に比べて多かった。また、調査水域の両細菌による汚染は、上流域から下流域にかけてひどくなっていることが明らかになった。すなわち、藻器堀川および健軍川流域の環境整備は進展しているものの、両河川からの生活排水の流入が、江津湖水系の水質汚染の原因の一つとなっていると考えられる。

自然の河川、湖沼および地下水は上水道源として広く各国で活用されている。中野ら²¹⁾は広島県芦田川水系(6地点)における運動性 *Aeromonas* 属細菌の分布と性状について調査し、上流域では年間を通して $1 \times 10^2 \sim 5 \times 10^2$ cfu/ml であったが、汚水の流入する中流域では夏期に最高 1.5×10^4 cfu/ml であったと報告している。沖津ら²²⁾は、神奈川県西部地域の157カ所の一般家庭用井戸水を調査し、その27.4%から *Aeromonas* 属細菌が検出されたこと、冬期に比べて夏期に菌数が多いこと、分離菌の34.6%が下痢発症の可能性を示したことなどを報告している。

Knochel and Jeppesen⁹⁾は、デンマーク(コペンハーゲン市周辺)の飲料水として利用されてい

る地下水(130 試料)の28%から *Aeromonas* 属細菌を検出し, Burke ら¹²⁾ はオーストラリア(パース市)の上水道について調査し, 河川水および地下水から *Aeromonas* 属細菌が常時検出されること, 上水道の大腸菌を死滅させるための塩素処理を行っても *Aeromonas* 属細菌は生存すること, 胃腸炎の発症が *Aeromonas* 属細菌の増殖パターンと一致して夏期に増えることを報告している。Moyer⁸⁾ は, 下痢症患者の糞便試料(3334 検体)を分析し, その約7%が *Aeromonas* 属細菌に由来すること, 貝類の摂取, 魚釣り, 水泳, 未処理水の飲用などが原因であること, 初夏から晩秋にかけて下痢症が多く認められることを報告している。

Aeromonas 属細菌は典型的な水系の常在細菌であり, 本菌による水環境の汚染が原因で, 上述のように飲料水や食品などを介した下痢症, 胃腸炎などの発生が数多く報告されている。江津湖・加勢川水系の水環境が *Aeromonas* 属細菌によってどの程度汚染されているかについては, これまで調査がされておらず, 今回の調査と比較することができなかった。親水公園としての江津湖の水資源や水環境の保全のためには, このような水質モニタリングが必要であると考えられる。

5 要 約

江津湖は豊富な湧水に依存し, 年間を通して水温はほぼ一定であるといわれているが, 調査の結果, 上江津湖に比べて下江津湖の水温は, 気温の影響を強く受けることが明らかになった。河川モデルとして設定した水源域(水前寺公園およびそれに続く湧水域), 上流域(上江津湖), 中流域(下江津湖)および下流域(大六橋に至る流域)は, 既に述べたように特徴ある水温分布を示した。冬期は水温の低下と共に一般に細菌数が減少するといわれているが, 江津湖水域のこのような特殊性を考えると, 年間を通じた細菌調査が必要であると思われる。

藻器堀川および健軍川では, 一般細菌はもとより *Aeromonas* 属細菌が多く検出された。また, より下流域ほどこれらの細菌で汚染されていることが明らかになった。*Aeromonas* 属細菌の中で, 食中毒やヒトの下痢症あるいは魚病と関わりの深い *A. hydrophila*, *A. sobria* および *A. caviae* が江津下流域にかけて多く検出された。

今回は水温が高くなり細菌数が増える夏期(8月)を調査時期に選んで, 江津湖・加勢川水系の一般細菌および *Aeromonas* 属細菌の分布について調査した。親水公園として位置づけられている江津湖の水質の保全については, 単に周辺の整備にとどまらず, 環境衛生学的な面からの調査・研究が必要である。しかし, このような観点からの江津湖水系の細菌の分布や汚染についての研究はない。以上の点を考慮して, 採水地点を18ヶ所に増やすと共に, 1994年4月より1996年3月までの2年間における月毎の水温および細菌数の推移について調査中である。この調査を通して江津湖・加勢川水系の詳細な細菌の分布や汚染の状況を把握できるものと期待している。

6 文 献

- 1) M. M. Cahill: Virulence factors in motile *Aeromonas* species, J. Appl. Bacteriol., **69**, 1-16 (1990)
- 2) J. C. Thornton, R. A. Garduno and W. W. Kay: Molecular biology of bacterial fish diseases, in "Biochemistry and molecular biology of fishes, 2", ed. by P. W. W. Hochachka and T. P. Mommsen, Elsevier, p. 159-189 (1993)

- 3) 篠田純男：新しい食中毒細菌。衛生化学, **29**, 33-44 (1983)
- 4) R. L. Buchanan and S. A. Palumbo: *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas sobria* as potential food poisoning species: A review. J. Food Saf., **7**, 15-29 (1985)
- 5) C. Abeyta, Jr. and M. M. Wekell: Potential sources of *Aeromonas hydrophila*. J. Food Saf., **9**, 11-22 (1988)
- 6) C. R. Fricker and S. Tompsett: *Aeromonas* spp. in foods: A significant cause of food poisoning? Int. J. Food Microbiol., **9**, 17-23 (1989)
- 7) S. D. Holmberg, W. L. Schell, G. R. Fanning, I. K. Wachsmuth, F. W. Hickman-Brenner, P. A. Blake, D. J. Brenner and J. J. Farmer III: *Aeromonas* intestinal infections in the United States. Ann. Int. Med., **105**, 683-689 (1986)
- 8) N. P. Moyer: Clinical significance of *Aeromonas* species isolated from patients with diarrhea. J. Clin. Microbiol., **25**, 2044-2048 (1987)
- 9) S. Knochel and C. Jeppesen: Distribution and characteristics of *Aeromonas* in food and drinking water in Denmark. Int. J. Food Microbiol., **10**, 317-322 (1990)
- 10) K. Krovacek, M. Peterz, A. Faris and I. Månsson: Enterotoxigenicity and drug sensitivity of *Aeromonas hydrophila* isolated from well water in Sweden: A case study. Int. J. Food Microbiol., **8**, 149-154 (1989)
- 11) K. Krovacek, A. Faris, S. B. Baloda, T. Lindberg, M. Peterz and I. Månsson: Isolation and virulence profiles of *Aeromonas* spp. from different municipal drinking water supplies in Sweden. Food Microbiol., **9**, 215-222 (1992)
- 12) V. Burke, J. Robinson, M. Gracey, D. Peterson and K. Partridge: Isolation of *Aeromonas hydrophila* from a Metropolitan water supply: Seasonal correlation with clinical isolates. Appl. Environ. Microbiol., **48**, 361-366 (1984)
- 13) V. Burke, J. Robinson, M. Gracey, D. Peterson, N. Meyer and V. Haley: Isolation of *Aeromonas* spp. from an unchlorinated domestic water supply. Appl. Environ. Microbiol., **48**, 367-370 (1984)
- 14) R. J. Seidler, D. A. Allen, H. Lockman, R. R. Colwell, S. W. Joseph and O. P. Daily: Isolation, Enumeration, and characterization of *Aeromonas* from polluted waters encountered in diving operations. Appl. Environ. Microbiol., **39**, 1010-1018 (1980)
- 15) The oxid manual, 6th edition, p. 2-32~2-33, 1990.
- 16) 坂崎利一：食水系感染症と細菌性食中毒, 中央法規出版株式会社, 東京, pp. 251-267 (1991)
- 17) E. B. Shotts, Jr. and R. Rimler: Medium for the isolation of *Aeromonas hydrophila*. Appl. Microbiol., **26**, 550-553 (1973)
- 18) S. A. Palumbo, F. Maxino, A. C. Williams, R. L. Buchanan and D. W. Thayer: Starch-ampicillin agar for the quantitative detection of *Aeromonas hydrophila*. App. Environ. Microbiol., **50**, 1027-1030 (1985)
- 19) A. H. Havelaar, M. During and J. F. M. Versteegh: Ampicillin-dextrin agar medium for the enumeration of *Aeromonas* species in water by membrane filtration. J. Appl. Bacteriol., **62**, 279-287 (1987)
- 20) R. C. Cipriano and J. Bertolini: Selection for virulence in the fish pathogen *Aeromonas salmonicida*, using Coomassie brilliant blue agar. J. Wild. Dis., **24**, 672-678 (1988)
- 21) 中野宏幸, 橋本秀夫, 佐々木真哉, 亀山俊樹, 高橋利明, 川上英之：水系環境, とくに河川における運動性 *Aeromonas*, *Plesiomonas* の分布と性状, 食品と微生物, **3**, 101-108 (1986)
- 22) 沖津忠行, 浅井良夫, 安田哲夫, 松島章喜, 滝沢金次郎：井戸水からの *Aeromonas* 属菌の検出, 日本公衛誌, **33**, 317-320 (1986)